

Original Article

Protective effect of aerobic physical activity on mir-21 and mir-146-b changes in renal tissue of male rats exposed to cadmium chloride

Amir Delshad^{1*}, Fereshteh Salimi², Maryam Eslami²

ABSTRACT

Background and Aims: Cadmium (Cd) is a nephrotoxic environmental pollutant, and microRNAs have been recently investigated as potential biomarkers for the diagnosis and pathology study of certain diseases. The present study aimed to determine the protective effect of aerobic physical activity on the changes of mir-21 and mir-146-b in renal tissue caused by cadmium chloride in male rats.

Materials and Methods: This experimental study was conducted on 32 healthy adult male Wistar rats with a mean weight of 250±30 grams and an age of 12 weeks. They were randomly assigned to four groups (n=8): 1- control group (C), 2- Exercise group (E), 3- Cadmium chloride group (CC), and 4- Cadmium+exercise group (CE). Aerobic exercises were performed five times a week for five weeks. It was run at a speed of 27 meters per minute with a zero slope for 16 min. During the study period, the rats received the cadmium chloride as gavage (a daily dose of three milligrams per kilogram of body weight diluted with distilled water orally). The mir-21 and mir-146-b were measured by the reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) method. The data were analyzed in SPSS software (version 24) using a one-way analysis of variance and Bonferroni's post hoc test at a significance level of 0.05.

Results: The present study demonstrated a significant lower expression of miR-21 (P=0.001) and a higher expression of miR-146-b (P=0.014) in the cadmium group than in the control group. Compared to the control group, aerobic training illustrated a more balanced state through a significant increase in miR-21 gene expression, as well as a significant decrease in miR-146-b.

Conclusion: The obtained results indicated that regular moderate-intensity exercise in cadmium-treated rats leads to microRNA secretion regulation associated with renal toxicity.

Keywords: Aerobic exercise, Cadmium chloride, Mir-21, Mir-146-b, Rat, Renal injury



Citation: Delshad A, Salimi F, Eslami M. [Protective effect of aerobic physical activity on mir-21 and mir-146-b changes in kidney tissue of male rats exposed to cadmium chloride]. J Birjand Univ Med Sci. 29(3): 263-274. [Persian]

DOI <https://www.doi.org/10.34785/bums024.2023.008>

Received: July 24, 2022

Accepted: November 20, 2022

¹ Department of Sports Physiology and Immunology, Faculty of Literature and Human Sciences, University of Qom, Qom, Iran

² Department of Sports Sciences, Faculty of Literature and Humanities, University of Qom, Qom, Iran

***Corresponding author:** Department of Sports Physiology and Immunology, Faculty of Literature and Human Sciences, University of Qom, Qom, Iran

Tel: +9825-32103693

Fax: +9825-32103693

E-mail: Ah_delshad@yahoo.com

اثر محافظتی تمرین هوازی بر تغییرات miR-21 و miR-146-b بافت کلیه القا شده با کلرید کادمیوم در موش‌های صحرایی نر

امیر دلشاد^{۱*}، فرشته سلیمی^۲، مریم اسلامی^۲

چکیده

زمینه و هدف: کادمیوم (Cd) یک آلاینده محیطی نفروتوکسیک است و از طرفی microRNAs اخیراً به عنوان نشانگرهای زیستی بالقوه برای تشخیص و آسیب شناسی در بیماری خاص مورد بررسی قرار می‌گیرند. هدف این مطالعه تعیین اثر محافظتی تمرین هوازی بر تغییرات miR-146-b و miR-21 بافت کلیه القا شده با کلرید کادمیوم در موش‌های صحرایی نر می‌باشد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ و سالم با دامنه وزنی 25.0 ± 3.0 گرم و سن ۱۲ هفته استفاده گردید که به صورت تصادفی در چهار گروه هشت‌تایی ۱- گروه کنترل (I) ۲- گروه تمرین (E)، ۳- گروه کلرید کادمیوم (C) ۴- گروه تمرین + کادمیوم (CE) قرار گرفتند. تمرینات هوازی، ۵ جلسه در هفته و به مدت ۵ هفته با سرعت ۲۷ متر در دقیقه با شیب صفر که با مدت زمان ۱۶ دقیقه اجرا شد و در طول دوره، موش‌ها کلرید کادمیوم به صورت گاواژ (روزانه یک دوز سه میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن رقیق شده با آب مقطر به صورت خوراکی) دریافت کردند. (miR-146-b, miR-21) با روش RT-PCR سنجش شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار spss نسخه ۲۴ و همچنین آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معناداری $P \leq 0.05$ بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد پس از فعالیت بدنی در بیان miR-21 ($P=0.001$) و miR-146-b ($P=0.014$) بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود داشت تمرین هوازی منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن miR-21 و همچنین کاهش معنی‌دار MiR 146-b، در مقایسه با گروه کنترل شد.

نتیجه‌گیری: مطالعه ما نشان داد که انجام تمرینات ورزشی منظم با شدت متوسط در موش‌های تیمار شده توسط کادمیوم موجب تنظیم، microRNA ها مرتبط با سمیت کلیه شد.

واژه‌های کلیدی: تمرینات هوازی، کلرید کادمیوم، miR-146-b miR-21، موش صحرایی، آسیب کلیه

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۱؛ ۲۹ (۳): ۲۶۳-۲۷۴.

دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۰۲ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۹

^۱ گروه فیزیولوژی و ایمونولوژی ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه قم، قم، ایران

^۲ گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه قم، قم، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه فیزیولوژی و ایمونولوژی ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه قم، قم، ایران

آدرس: قم- دانشگاه قم- دانشکده ادبیات و علوم انسانی- گروه فیزیولوژی و ایمونولوژی ورزشی

تلفن: ۰۲۵-۳۲۱۰۳۶۹۳ نمابر: ۰۲۵-۳۲۱۰۳۶۹۳ پست الکترونیکی: Ah_delshad@yahoo.com

مقدمه

کادمیوم (Cd) یکی از مضرترین فلزات سنگین در سراسر جهان است و با ورود به بدن باعث مشکلاتی مانند سمیت کلیه، کبد و سرطان‌زایی می‌شود. یون کادمیوم به صورت یون‌های فلزات ضروری همچون روی، منگنز، آهن، مس و کلسیم ظاهر شده و با استفاده از مسیرهای انتقال از موانع غشای سلولی کلیه عبور و باعث آسیب به بافت کلیه می‌شود (۱). روند افزایش تولیدات کادمیوم که به عنوان آلاینده در کارخانه‌های ذوب فلزات و بازیافت زباله الکترونیکی، احتراق سوخت‌های فسیلی، استفاده از کودهای فسفاته انتشار می‌یابد از دلایل افزایش غلظت کادمیوم در محیط زندگی (اتموسفیر، خاک و آب) است (۲) و از این طریق وارد چرخه‌ی موجودات زنده می‌شود. کادمیوم به همراه گلوبول‌های قرمز و آلبومین به جریان خون منتقل و سپس در کلیه‌ها انباشته (۳) و پاسخ‌های التهابی در سیستم ایمنی بدن انسان ایجاد می‌کند (۴). آسیب حاد کلیه (Acute kidney injury) توسط میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) اندازه‌گیری و به مفهوم از دست دادن عملکرد کلیه و به عنوان یک بیماری پیچیده در نظر گرفته می‌شود؛ AKI یک عامل خطر مستقل قوی در ایجاد بیماری مزمن کلیوی پیشرونده (Progressive chronic kidney disease) و در مرحله نهایی، علاوه بر امراض کلیه، بیماری قلبی عروقی را نیز به همراه دارد. نظر بر این است که علل اولیه AKI، نفروتوکسین‌ها و آسیب‌های ایسکمیک است که عملکرد گلومرولی و لوله‌ای را به خطر می‌اندازند (۵). در مطالعات نشان داده شده است که miRNA ها فرآیندهای بیولوژیکی متنوعی از جمله مورفوژن کلیه را تعدیل می‌کنند. اختلال در بیان miRNA رشد اولیه کلیه را مختل و در پاتوژن بیماری‌های کلیوی نقش دارد (۶). miRNA ها مولکول‌های کوچک و درون‌زا RNA هستند که طول آن تقریباً ۲۵-۲۱ نوکلئوتید است و مانند پروتئین‌ها، در انواعی از سیالات زیستی از جمله ادرار، خون، مایع مغزی نخاعی و بزاق شناسایی می‌شوند. miRNA ها نقشی کاربردی در داخل سلول دارند تا بیان ژن پس از رونویسی را از طریق مهار رونوشت یا بی‌ثباتی تنظیم کنند (۷). برخی از microRNA های یافت شده در کلیه‌ها برای عملکرد کلیه

ضروری تلقی می‌شوند و تغییرات در بیان آن‌ها ممکن است به طور قابل توجهی در ایجاد بیماری‌های حاد کلیوی وابسته به دیابت مانند ^۱DKD، نفریت لوپوسی، کلیه پلی کیستیک و غیره کمک کنند، زیرا آن‌ها بر ژن‌های دخیل در پاتوژن تأثیر می‌گذارند. بنابراین، به طور بالقوه اهداف درمانی خوبی برای بیماری‌های کلیوی هستند (۸). miR-21 از فراوان‌ترین microRNA ها شناخته شده است و اساساً در تمام سلول‌هایی که در تنظیم سلامت و بیماری نقش دارند، بیان می‌شود (۹). سطوح بالای miR-21 نشانگر فعال‌سازی سلول‌های ایمنی است و بیان آن وابسته به RNA پلیمراز نوع II است و از رونوشت اولیه مشتق شده است که هم درپوش و هم پلی‌آدینیل (فرایند بیان ژن) است (۱۰). miR-21 اثر ضد التهابی بر روی ماکروفاژهای محل آسیب دارد و ممکن است علاوه بر اثر سرکوب کننده IL-12، نقش مهمی در رفع التهاب داشته باشد (۱۱). همچنین مطالعات قبلی miR-146 را به عنوان یک تنظیم کننده منفی التهاب، به ویژه در تهاجم ویروس تعریف کردند (۱۲). بسیاری از تغییرات اپی ژنتیکی به ورزش نسبت داده شده است که نمایه بیان چندین ژن را تغییر می‌دهد. به طور کلی، تغییرات اپی ژنتیکی DNA یا ساختار کروماتین می‌تواند بر رونویسی ژن‌ها، مستقل از توالی‌های اولیه آن‌ها تأثیر بگذارد. شایع‌ترین تغییرات اپی ژنتیکی ناشی از ورزش شامل متیلاسیون و استیلاسیون هیستون (در ساختار کروماتین)، متیلاسیون DNA و بیان miRNA های مختلف است. مطالعات، تغییراتی را در بیان miRNA ها پس از تمرین بدنی شناسایی کرده‌اند که بینش جدیدی را در مورد کنترل مولکولی سازگاری با ورزش به ارمغان می‌آورد (۱۳) از این رو تمرینات ورزشی مسیرهای پیام رسانی متعددی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که از مزایای آن رگ‌زایی، التهاب، بازایی عضلات و بیوژن میتوکندری می‌باشد. با این حال، مکانیسم دقیق سلولی و مولکولی برای اثرات مفید ورزش نامشخص است. با این وجود، RNA های غیر کدکننده به ویژه miRNA ها، یک جزء تنظیمی جدید را تشکیل می‌دهند که ممکن است در سازگاری‌های ناشی از ورزش نقش داشته باشد (۱۴).

¹ Diabetic kidney disease (DKD)

فعالیت بدنی روشی مؤثر برای کاهش خطر و بهبود ظرفیت کلیه، در بیماران مزمن کلیوی است. تجزیه و تحلیل miRNA ها می‌تواند درک ما را از سازگاری با ورزش و تمرین در سطح بیان ژن در CKD بهبود بخشد (۱۵). تحقیقات قبلی افزایش بیان miR-21 را در کلیه‌های موش‌های مبتلا به آسیب ایسکمی/ریپرفیوژن یا آسیب کلیوی ناشی از جنتامایسین نشان داد و سطح miR-21 نیز در ادرار بیماران مبتلا به آسیب حاد کلیه نسبت به بیماران سالم افزایش داشت (۶، ۵) صادقی و همکاران نشان دادند که ورزش هوازی بیان miR-132 و miR-146a را در نئوواسکولاریزاسیون شبکه در موش‌های دیابتی تنظیم می‌کند (۱۶) و همچنین ورزش شنا منجر به کاهش معنی‌دار سطح بیان miR-146a و NF-kB سیتوکین‌های التهابی و افزایش قابل‌توجهی در سطح بیان TRAF6^۱ و IRAK1^۲ در گروه دیابتی ورزشکار نسبت به گروه دیابتی می‌شود (۱۷). تا کنون تحقیقات بسیار محدودی به طور مستقیم در مورد تأثیرات تمرینات هوازی بر فاکتور miR-21 و miR-146-b بر سمیت کلرید کادمیوم انجام شده است و با توجه به نقش کلیدی این متغیرها در التهاب و تأثیرات احتمالی تمرینات هوازی بر میزان بیان عوامل مؤثر در سمیت کادمیوم بر بافت کلیه پژوهش حاضر به بررسی اثر یک دوره تمرین هوازی بر بیان miR-21 و miR-146-b در بافت کلیه موش‌های صحرایی نر در معرض کلرید کادمیوم پرداخته است.

روش تحقیق

حیوانات و گروه‌های آزمایشی

پژوهش حاضر از نوع تجربی و طبق دستورالعمل‌های سازمان بین‌المللی مطالعه درد انجام و کلیه اصول اخلاقی پژوهش توسط کمیته اخلاق دانشگاه قم با شماره کد IR.QOM.REC.1401.006 مورد تأیید قرار گرفت. نمونه‌های آماری این پژوهش تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر سالم نژاد ویستار با دامنه وزنی 25.0 ± 3.0 گرم و سن ۱۲ هفته بود که از انیستیتو پاستور تهران تهیه گردید. موش‌ها حیوان‌خانه دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد

¹ Tumor necrosis factor receptor 6 (TRAF6)

² Interleukin 1 Receptor Associated Kinase 1 (IRAK1)

قم با میانگین دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 45 ± 4 درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از جنس پلی کرنات نگهداری شدند که در ساعات مختلف به آب و غذای ویژه موش (شرکت خوراک دام پارس) به صورت آزاد و بدون محدودیت دسترسی داشتند. موش‌ها روزانه یک دوز سه میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کلرید کادمیوم (رقیق شده با آب مقطر) را به صورت گاواژ دریافت می‌کردند (۱۸). در مرحله آشنایی موش‌ها به مدت یک هفته (۵ روز) هر جلسه به مدت ۵-۱۰ دقیقه و با سرعت ۵-۱۰ متر در دقیقه بر روی نوار گردان جهت آشنایی با شرایط، تمرین کردند. سپس تمرینات پنج جلسه اصلی در هفته به مدت پنج هفته اجرا شد. در این پژوهش موش‌ها به صورت تصادفی ساده به چهار گروه هشت‌تایی: ۱- گروه کنترل (C) که هیچ‌گونه فعالیت ورزشی انجام نداده و فقط در شرایط آزمایشگاهی آب و غذا دریافت می‌کردند. ۲- گروه تمرین (E)، این گروه فقط در برنامه تمرینی نوار گردان شرکت کردند. ۳- گروه کلرید کادمیوم (CC)، گروهی که فقط کادمیوم دریافت کرد. ۴- گروه تمرین - کادمیوم (CE)، شامل تمرین و سمیت کادمیوم قرار گرفتند. پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین موش‌ها توسط دی‌اتیل اتر بیهوش و بافت کلیه خارج و در نیتروژن مایع منجمد قرار گرفت. بافت‌های منجمد در محلول انتقال بافت منجمد RNAlater®-ICE از قبل سرد شده (۸۰- درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند و تا زمان جداسازی RNA در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۶).

پروتکل تمرینی

تمرینات هوازی، پنج جلسه در هفته و به مدت پنج هفته بر روی نوار گردان ویژه جوندگان انجام گردید. شدت و حجم تمرین توسط زمان فعالیت به تدریج افزایش یافت. پروتکل تمرینی، شامل پنج دقیقه گرم کردن و سرد کردن و همچنین دویدن موش‌ها بر روی نوار گردان با سرعت ۲۷ متر در دقیقه که با مدت زمان ۱۶ دقیقه شروع شد و روزانه یک دقیقه به زمان تمرین اضافه شد و به ۳۰ دقیقه در هر جلسه رسید (۱۹) برای اینکه سازگاری‌های به‌دست

آمده به حالت یکنواخت باقی بماند، شدت تمرین در هفته چهارم و پنجم ثابت نگه داشته شد.

جدول ۱- پروتکل تمرینات

هفته‌ها	جلسه	شدت و مدت تمرین
اول	۱	۱۶ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۲	۱۷ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۳	۱۸ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۴	۱۹ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۵	۲۰ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
دوم	۱	۲۱ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۲	۲۲ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۳	۲۳ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۴	۲۴ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۵	۲۵ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
سوم	۱	۲۶ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۲	۲۷ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۳	۲۸ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۴	۲۹ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۵	۳۰ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
چهارم	۱	۳۰ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۲	۳۰ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۳	۳۰ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۴	۳۰ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۵	۳۰ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
پنجم	۱	۳۰ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۲	۳۰ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۳	۳۰ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۴	۳۰ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه
	۵	۳۰ دقیقه با سرعت ۲۷ متر در دقیقه

هفته اول آشنایی

هفته دوم اضافه بار

هفته سوم اضافه بار

هفته چهارم حفظ و تثبیت

هفته پنجم حفظ و تثبیت

روش اندازه‌گیری متغیرهای وابسته تحقیق استخراج RNA

نمونه‌های بافت کلیه در ازلت منجمد و با استفاده از هاون خرد شد. پس از لیزکردن، ۵ تا ۱۰ ثانیه ورتکس کرده و پنج دقیقه در دمای محیط قرار گرفت. ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به آن اضافه نموده و میکروتیوب‌ها به مدت سه دقیقه در دمای محیط و سپس به مدت پنج دقیقه بر روی یخ با دمای 4°C قرار داد شد و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای 20°C قرار گرفت.

قرارگرفت. سپس استخراج RNA طبق دستورالعمل کیت ReagentTM Samzol انجام گرفت. غلظت و خلوص کمی RNA استخراج شده توسط اسپکتروفوتومتر نانودراپ بررسی شد. در این روش ابتدا یک میکرولیتر از نمونه DNA را در دستگاه قرار می‌دهیم تا غلظت و خلوص RNA بر اساس مقادیر جذب نوری در موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت آن براساس ضریب رقت برحسب $\text{ng}/\mu\text{l}$ مشخص شود. به منظور بررسی RNA ژنومیک استخراج شده، نمونه حاصل بر روی ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز گردید.

سنتز cDNA

بعد از انجام استخراج با استفاده از کیت Sambio™ cDNA synthesis سنتز cDNA انجام شد. پس از سانتریفیوژ به مدت ۲۰ ثانیه نمونه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد و سپس در دمای ۴۷ درجه به مدت ۶۰ دقیقه و دمای ۸۵ درجه به مدت پنج دقیقه قرار داده شد و سپس نمونه به منفی ۷۰ درجه انتقال داده شد تا برای بررسی بیان ژن ها استفاده شوند.

انجام تکنیک Real-Time PCR

برای آنالیز تفسیر میزان بیان ژن مورد نظر از ژن کنترل داخلی یا House Keeping Gene استفاده شد. در این روش تعداد مهم نبوده و فقط کاهش و یا افزایش بیان ژن مهم است که این افزایش و یا کاهش را با یک ژن استاندارد یا مرجع مقایسه گردید. پردازش اطلاعات در Real-Time PCR بسیار حائز اهمیت می باشد، پردازش براساس نمودار استاندارد و ارزیابی بازده PCR انجام گرفت. پس از اتمام تست و به دست آوردن CT های ژن رفرنس و ارزیابی میزان بیان ژن توسط آزمون real time PCR از روش کمیت سنجی نسبی و متد $\Delta\Delta CT$ استفاده شد.

منحنی ذوب

دستگاه دما را با فواصل معین در یک بازه‌ی دمایی بین ۶۵-۹۵ درجه قرار داده و به تدریج و با سرعت $0.3^{\circ}\text{C}/\text{s}$ افزایش می دهیم. این رنگ به تمام DNA های دو رشته‌ای متصل و پس از اتصال نور فلورسنت توسط detector دستگاه آشکار میشود. فلورسنت در طی واکنش PCR با افزایش تعداد کپی cDNA افزایش می یابد. پس از اینکه PCR به پایان رسید، محصولات با افزایش دما ذوب شده و با کاهش دما به حالت دو رشته‌ای در می آیند. تغییرات فلورسنت نمونه‌ها در طی این مرحله در منحنی ذوب نشان داده شد.

طراحی پرایمر

ابتدا توالی mRNA های مربوط به ژن های Mir 21 و Mir 146 استفاده از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها توسط نرم افزار کامپیوتری AllelID ساخته و سپس هر پرایمر توسط نرم افزار BLAST جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت. پرایمرها توسط شرکت سیناژن ساخته شد. در این تحقیق از ژن u6 به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید.

جدول ۲- لیست پرایمر طراحی شده در جدول به تفصیل آمده است.

ژن	توالی پرایمر
Mir 21	For: 5'- CCTTGTCGGGTAGCTTATCA -3' Rev: 5'- CGAGGAAGAAGACGGAAGAAT -3'
Mir146-b	For: 5'- CAGCTCTGAGAACTGAATTCC -3' Rev: 5'- CGAGGAAGAAGACGGAAGAAT -3'
U6	For: 5'- CTTCCGAGTCAGAGGTTTC -3' Rev: 5'- GTATGTAGATGTGGGTGGC -3'

تحلیل آماری

جهت تجربه و تحلیل داده ها میانگین و انحراف استاندارد استفاده شد. ابتدا نرمال بودن توزیع داده ها و همسان بودن واریانس ها به ترتیب با استفاده از آزمون های شاپیرو-ویلک و لوین ارزیابی شد ($P \geq 0.05$) سپس از آزمون تحلیل آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) برای مقایسه تغییرات بین گروهی و

به دنبال آن برای مقایسه جهت تعیین محل دقیق این تفاوت از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شده است ($P \leq 0.05$). کلیه بررسی های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام گرفت.

یافته‌ها

($P=0/04$)، کادمیوم ($P=0/03$) در بیان ژن miR-21 بافت کلیه

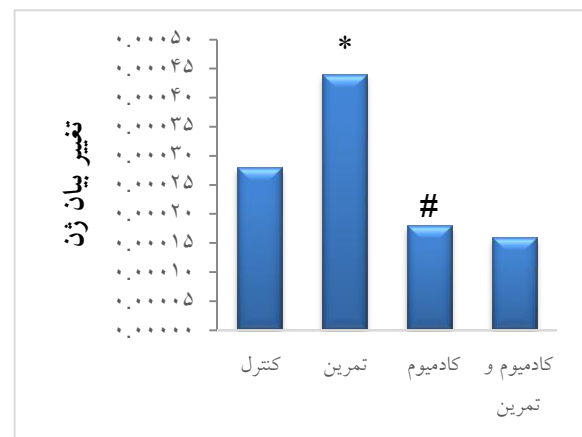
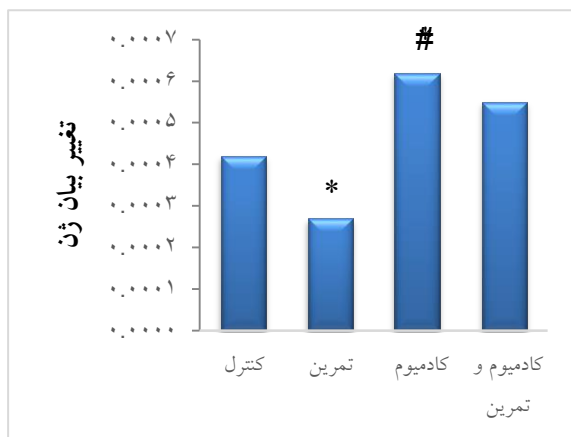
تفاوت معنی‌داری دیده شد؛ اما بین گروه کادمیوم و تمرین کادمیوم ($P=0/26$) و کنترل با تمرین کادمیوم ($P=0/72$) تفاوت معناداری دیده نشد.

نتایج تحلیل آماری نشان داد در میزان بیان ژن miR-21 بین چهار گروه مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P=0/001$) و نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که بین گروه کنترل و تمرین

جدول ۳- میانگین و انحراف استاندارد در گروه‌های مختلف مطالعه، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی در miR-21 و mir-146-b پس از یک دوره تمرین هوازی با شدت متوسط در موش صحرایی

متغیر	گروه‌ها	میانگین و انحراف استاندارد	f	P	آزمون تعقیبی بونفرونی
					miR-146-b mir-21 گروه
mir-21	کنترل	$0/00028 \pm 0/00056$	۴/۵۳	# ۰/۰۰۱	E
	تمرین	$0/00044 \pm 0/00014$			CC
	کادمیوم	$0/00018 \pm 0/00012$			EC
	تمرین- کادمیوم	$0/00016 \pm 0/00017$			C
					CC
					EC
mir-146-b	کنترل	$0/00042 \pm 0/00024$	۳/۰۳	# ۰/۰۱۴	C
	تمرین	$0/00027 \pm 0/00077$			E
	کادمیوم	$0/00062 \pm 0/00032$			CC
	تمرین- کادمیوم	$0/00055 \pm 0/00021$			EC
					C
					EC

C = گروه کنترل، E = گروه تمرین، CC = گروه کادمیوم، EC = گروه تمرین کادمیوم
سطح معنی‌داری در آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه، * سطح معنی‌داری در آزمون تعقیبی بونفرونی



نمودار ۲- تغییرات بیان ژن miR-146-b در گروه‌های مطالعه.

* $P<0/002$: تفاوت معنادار بین گروه کنترل و تمرین # $P<0/001$: تفاوت معنادار بین گروه تمرین با کادمیوم

نمودار ۱- تغییرات بیان ژن miR-21 در گروه‌های مطالعه.

* $P<0/04$: تفاوت معنادار بین گروه کنترل و تمرین # $P<0/002$: تفاوت معنادار بین گروه تمرین با کادمیوم

در متغیر miR-146-b بین چهار گروه مطالعه تفاوت معنی‌داری دیده شد ($P=0/014$). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که بین گروه تمرین با گروه کنترل ($P=0/02$) و گروه کادمیوم ($P=0/001$) در بیان ژن miR-146-b بافت کلیه تفاوت معنی‌داری دیده می‌شود اما بین گروه کادمیوم و تمرین کادمیوم ($P=1$) و کنترل با تمرین کادمیوم ($P=0/12$) این تفاوت معناداری نبود.

بحث

در مطالعه حاضر اثر محافظتی فعالیت بدنی هوازی بر تغییرات miR-21 و miR-146-b بافت کلیه القا شده با کلرید کادمیوم در موش‌های صحرایی نر بررسی گردید. نتایج نشان داد که کادمیوم باعث کاهش (۶۴٪) بیان ژن miR-21 در موش‌های صحرایی نر که در معرض مسمومیت کادمیوم قرار گرفته‌اند، شد اما ورزش هوازی از کاهش آن نسبت به گروه کنترل جلوگیری و حتی توانست منجر به افزایش (۶۳٪) (ترمیمی) بیان ژن miR-21 در موش‌های صحرایی در معرض کادمیوم نسبت به گروه‌های دیگر شود.

MicroRNA ها نشانگرهای پیش‌آگهی بالقوه برای بیماری‌های کلیوی مختلف هستند؛ زیرا به‌طور قابل توجهی پایدار هستند و در مواد بیولوژیکی مختلف وجود دارند (۸). اثرات سلولی افزایش miR-21 بر روی سلول‌های اپیتلیال لوله پروگزیمال ممکن است محافظ و/یا آسیب‌رسان باشد؛ زیرا بررسی‌ها نشان می‌دهد miR-21 آسیب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را محدود می‌کند و بر آپوپتوزیس و فیبروز تأثیر می‌گذارد (۶) و بیان آن به صورت پویا توسط مسیرهای پیام‌رسانی پیچیده تنظیم می‌شود و می‌تواند توسط پیام‌های خارج سلولی در سلول‌های ایمنی افزایش یابد. سلول پیش‌ساز میلوئیدی و مونوسیت‌ها بسته به پیام‌های خارج سلولی دریافتی به سلول‌های بالغ مختلف می‌توانند تمایز یابد و منجر به افزایش بیان miR-21 در طول فعال‌سازی گردند. روی هم رفته، این داده‌ها تأیید می‌کنند که miR-21 به‌عنوان یک نشانگر مهم فعال‌سازی سلول‌های ایمنی در زمینه‌های مختلف عمل می‌کند (۱۰). از نظر عملکردی در هر دو بیماری نئوپلاستیک و

غیرنئوپلاستیک، تنظیم پایین miR-21 میزان مرگ سلولی را افزایش می‌دهد که احتمالات به‌دلیل بیان فاکتور ۱ القایی هیپوکسی $HIF-1\alpha$ ، $PTEN$ ^۲ و $PDCD4$ ^۳ می‌باشد (۹). مطالعه اخیر افزایش بیان miR-21 را در سرم بیماران بهبود یافته از سرطان پستان نشان داده است (۲۰). علاوه بر این مرین منظم با شدت متوسط با کاهش ۵۰٪-۳۰ در خطر مرگ ناشی از سرطان ارتباط دارد. نتایج یک مطالعه مروری بیان می‌کند که تمرین حاد می‌تواند به‌طور موقت بیان miR-21 را به‌صورت مثبت تنظیم کند (۲۱). نقش miR-21 در پاسخ به ورزش، مشارکت غیرمستقیم در رگ‌زایی با القای بیان $HIF-1\alpha$ و VEGF، تنظیم آپوپتوز و افزایش فعالیت آنزیم نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیال و واسطه پاسخ ضد التهابی در ماکروفاژهاست (۱۴). در همین راستا قلم بر و همکاران اثر تمرین هوازی بر مسیر سیگنالینگ miR-21 /MMP-2 21 فیروز قلبی در رت‌های سالمند را بررسی کردند که نتایج نشان داد تمرین هوازی با افزایش miR-21 همراه است (۲۲). همچنین Zhou و همکاران بیان کردند در سرم، miR-21 در پاسخ به یک ساعت تمرین ورزشی حاد (AET) افزایش یافت (۱۴) از سوی دیگر Delphan و همکاران در مطالعه‌ای تأثیر اینتراتوموری تمرین استقامتی تداومی و تمرین پرشدت تناوبی بر بیان ژن‌های miR-21 و bcl2 در موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان بررسی کردند؛ نتایج نشان داد که بیان ژن miR-21 در دو گروه تجربی به شکل معناداری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (۲۳) که با نتایج پژوهش حاضر ناهمسو می‌باشد که اختلاف مشاهده شده در میان این نتایج می‌تواند ناشی از اختلاف در نمونه‌های آماری و مداخلات ورزشی (مدت، شدت، نوع) باشد.

نتایج مطالعه دیگر حاکی از آن است که بین چهار گروه در متغیر miR-146-b تفاوت معناداری وجود داشت که کادمیوم باعث افزایش ۵۴ درصدی بیان ژن miR-146-b در موش‌های صحرایی نر در معرض مسمومیت کادمیوم شد؛ اما ورزش هوازی از افزایش آن جلوگیری و حتی منجر به کاهش ۶۰ درصدی بیان ژن miR-146-

¹ Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1 α)

² Phosphatase and tensin homolog (PTEN)

³ Programmed cell death protein 4 (PDCD4)

b در موش‌های صحرایی در معرض مسمومیت با کادمیوم نسبت به گروه‌های دیگر شده.

miR-146-a و miR-146-b توالی ژنی یکسانی دارند و تنها در دو نوکلئوتید در انتهای ۳' در توالی‌های بالغ خود تفاوت دارند که نشان می‌دهد ژن‌های هدف یکسان را سرکوب و فرآیندهای بیولوژیکی مشابهی را کنترل می‌کنند (۱۲). microRNA در مونسیت‌های انسانی نشان می‌دهد که تعدادی از آن‌ها شامل miR-146-a/b، miR-132، miR-155 و ژن‌های پاسخ‌دهنده به اندوتوکسین هستند. تجزیه و تحلیل بیان ژن miR-146-a و miR-146-b نشان می‌دهد آن‌ها یک ژن وابسته به NF-kB بوده و الگوی از لقاء را در پاسخ به انواع اجزای میکروبی و سیتوکین‌های پیش التهابی ایجاد می‌نمایند (۲۴). miRNAها اغلب تنظیم کننده‌های هموستاتیک هستند و از ویژگی‌های آن‌ها این است که عملکردشان در پاسخ به آسیب یا استرس بیش از حد تقویت می‌شود (۲۵). miR-146-a یک miRNA مرتبط با التهاب است و تغییرات آن ناشی از ورزش به طور گسترده در افراد سالم و بیماران گزارش شده است که نشان می‌دهد miR-146a ممکن است در سازگاری فیزیولوژیکی با ورزش نقش داشته باشند. نمایه‌های miRNA در گردش تحت نوع، شدت و مدت تمرین متفاوت است (۱۴). Van Craenenbroeck و همکاران در مطالعه‌ای عنوان کردند؛ در بیماران (CKD) ورزش حاد منجر به کاهش قابل توجه miR-146-a می‌شود (۱۵). Baggish و همکاران مطالعه‌ای بر روی دوندگان ماراتن انجام داد و دریافت که miR-146-a، به طور متفاوتی تنظیم می‌شوند (۲۶) که با نتایج حاضر همسو می‌باشد. miR-146 و miR-155 مورد توجه بسیاری از محققین بوده و نشان داده شده است که این دو miRNA توسط محرک‌های پیش التهابی مانند اینترلوکین ۱، فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF-a) و گیرنده‌های شبه Toll (TLRs) القا می‌شوند. همچنین در فیبروبلاست‌های سینه‌ویال و بافت سینه‌ویال روماتوئید شناسایی شده اند (۲۷) miR-146a چندین ژن را در مسیر گیرنده Toll مانند 4 (TLR4) / فاکتور هسته ای-κB (NF-κB) هدف قرار می‌دهد، یک مسیر مهم پاسخ ایمنی و التهابی که پاسخ التهابی را تنظیم

می‌کند (۲۸). اوقباعتی و همکاران نشان داده‌اند که ۸ هفته تمرین با شدت متوسط میزان بیان miR-146-a را در بافت کلیه موش‌های دیابتی افزایش می‌دهد (۲۹). Sawada و همکاران در پژوهشی تأثیر microRNA های پس از یک دوره تمرین مقاومتی حاد در انسان را بررسی کردند و نتایج گویای افزایش سطح miR-149 و کاهش miR-146 پس از سه روز تمرین مقاومتی بود (۳۰). ساری صراف و همکاران گزارش کردند به دنبال تمرینات تناوبی و تداومی هوازی همراه با محدودیت کالریک در زنان چاق منجر به افزایش miR-146-a می‌شود (۳۱) که علت این ناهم‌سویی با نتایج این پژوهش را می‌توان به تفاوت در نوع، شدت و مدت پروتکل تمرینی و آزمودنی‌ها مرتبط دانست. به عنوان یک مطالعه اولیه، برخی از محدودیت مطالعه حاضر باید بیشتر مورد بررسی قرار گیرد. اولاً، در مطالعه آینده بهتر است تعداد نمونه‌ها افزایش یابد. ثانیاً، این مطالعه پاسخ miRNA ها در سمیت بافت کلیه و اثر محافظتی تمرین هوازی و تنظیم دینامیکی miRNA های پس از این نوع تمرینات می‌باشد؛ ولی در خصوص شدت و مدت و نوع تمرینات دیگر به مطالعه بیشتر نیاز است. در نهایت، تجزیه و تحلیل کمی زیرمجموعه miRNA های مرتبط با بافت کلیه در این تحقیق محدود می‌باشد و برای به دست آوردن نمایه کامل‌تری از تنظیم miRNA های در سازگاری با تمرین ورزشی، غربالگری با توان عملیاتی بالاتری مورد نیاز است. نتایج حاضر، به دانش در مورد اثرات تمرین هوازی بر کاهش سمیت کلیه و miRNA های مداخله گر در بهبود آسیب بافت کلیه کمک می‌کند و همچنین مطالعات آینده برای تعریف استفاده بالقوه از این miRNA ها به عنوان نشانگرهای زیستی و اثر مفید تمرین ورزشی بر عملکرد بیولوژیکی مستقیم miRNA های در سازگاری با روش‌های مختلف تمرین ورزشی مورد نیاز است.

نتیجه گیری

در مجموع با بررسی نتایج می‌توان نتیجه گرفت؛ کادمیوم منجر به کاهش miR-21 و افزایش miR-146-b شده است؛ اما فعالیت بدنی اثر محافظتی در برابر کاهش بیش از اندازه miR-21 و

IR.QOM.REC.1401.006 می‌باشد. بدین‌وسیله از همکاری مسئولین مرکز تحقیقات علوم پزشکی دانشگاه آزاد قم و آزمایشگاه تحقیقات جهاد دانشگاهی قم به‌ویژه جناب دکتر ناصر کلهر تشکر و قدردانی می‌شود.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

افزایش بیش‌تر mir-146-b شده است که می‌تواند بافت کلیه را در برابر بیماری‌ها ناشی از کلرید کادمیوم محافظت نماید.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان‌نامه تحت عنوان "اثر یک دوره تمرین هوازی و مکمل‌گیری عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر بیان mir21 و mir146 بافت کلیه القا شده با کلرید کادمیوم در موش‌های صحرایی نر"، در مقطع کارشناسی‌ارشد در سال ۱۴۰۱ با کد

منابع:

- 1- Thévenod F. Membrane transport proteins and receptors for cadmium and cadmium complexes. Cadmium interaction with animal cells. Springer Nature :Switzerland.2018: 1-22. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-89623-6_1
- 2- Genchi G, Sinicropi MS, Lauria G, Carocci A, Catalano A. The effects of cadmium toxicity. Int J Environ Res Public Health. 2020; 17(11): 3782. DOI: [10.3390/ijerph17113782](https://doi.org/10.3390/ijerph17113782)
- 3- Satarug S. Dietary cadmium intake and its effects on kidneys. Toxics. 6(1): 15. 2018. DOI: [10.3390/toxics6010015](https://doi.org/10.3390/toxics6010015)
- 4- Chen J, Zhang S, Tong J, Teng X, Zhang Z, Li S, et al. Whole transcriptome-based miRNA-mRNA network analysis revealed the mechanism of inflammation-immunosuppressive damage caused by cadmium in common carp spleens. Sci Total Environ. 2020; 717: 137081. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2020.137081](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137081)
- 5- Saikumar J, Hoffmann D, Kim T-M, Gonzalez VR, Zhang Q, Goering PL, et al. Expression, circulation, and excretion profile of microRNA-21, -155, and -18a following acute kidney injury. Toxicol Sci. 2012; 129(2): 256-67. DOI: [10.1093/toxsci/kfs210](https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs210)
- 6- Fay MJ, Alt LA, Ryba D, Salamah R, Peach R, Papaeliou A, et al. Cadmium nephrotoxicity is associated with altered microRNA expression in the rat renal cortex. Toxics. 2018; 6(1): 16. DOI: [10.3390/toxics6010016](https://doi.org/10.3390/toxics6010016)
- 7- Harrill AH, Sanders AP. Urinary microRNAs in environmental health: biomarkers of emergent kidney injury and disease. Curr Environ Health Rep. 2020; 7(2): 101-8. DOI: [10.1007/s40572-020-00271-8](https://doi.org/10.1007/s40572-020-00271-8)
- 8- Nascimento LRd, Domingueti CP. MicroRNAs: new biomarkers and promising therapeutic targets for diabetic kidney disease. J Bras Nefrol. 2019; 41: 412-22. DOI: [10.1590/2175-8239-JBN-2018-0165](https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2018-0165)
- 9- Jenike AE, Halushka MK. miR-21: a non-specific biomarker of all maladies. Biomark Res. 2021; 9(1): 18. DOI: [10.1186/s40364-021-00272-1](https://doi.org/10.1186/s40364-021-00272-1)
- 10- Sheedy FJ. Turning 21: induction of miR-21 as a key switch in the inflammatory response. Front Immunol. 2015; 6: 19. DOI: [10.3389/fimmu.2015.00019](https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00019)
- 11- Jadideslam G, Ansarin K, Sakhinia E, Babaloo Z, Abhari A, Alipour S, et al. Expression levels of miR-21, miR-146b and miR-326 as potential biomarkers in Behcet's disease. Biomark Med. 2019; 13(16): 1339-48. DOI: [10.2217/bmm-2019-0098](https://doi.org/10.2217/bmm-2019-0098)
- 12- Zhang L, Fu Y, Wang H, Guan Y, Zhu W, Guo M, et al. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus-induced macrophage differentiation is regulated by miR-146. Front Immunol. 2019; 10: 1095. DOI: [10.3389/fimmu.2019.01095](https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01095)

- 13- da Silva FC, da Rosa Iop R, Andrade A, Costa VP, Gutierrez Filho PJB, da Silva R. Effects of physical exercise on the expression of MicroRNAs: a systematic review. *J Strength Cond Res.* 2020; 34(1): 270-80. DOI: [10.1519/JSC.0000000000003103](https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000003103)
- 14- Zhou Q, Shi C, Lv Y, Zhao C, Jiao Z, Wang T. Circulating microRNAs in response to exercise training in healthy adults. *Front Genet.* 2020; 11: 256. DOI: [10.3389/fgene.2020.00256](https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00256)
- 15- Van Craenenbroeck AH, Ledeganck KJ, Van Ackeren K, Jürgens A, Hoymans VY, Fransen E, et al. Plasma levels of microRNA in chronic kidney disease: patterns in acute and chronic exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2015; 309(12): H2008-H16. DOI: [10.1152/ajpheart.00346.2015](https://doi.org/10.1152/ajpheart.00346.2015)
- 16- Sadeghian R, Shahidi S, Komaki A, Habibi P, Ahmadiasl N, Yousefi H, et al. Synergism effect of swimming exercise and genistein on the inflammation, oxidative stress, and VEGF expression in the retina of diabetic-ovariectomized rats. *Life Sci.* 2021; 284: 119931[Persian]. DOI: [10.1016/j.lfs.2021.119931](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119931)
- 17- Alipour MR, Yousefzade N, Babil FM, Naderi R, Ghiasi R. Swimming Impacts on Pancreatic Inflammatory Cytokines, miR-146a and NF-KB Expression Levels in Type-2 Diabetic Rats. *Curr Diabetes Rev.* 2020; 16(8): 889-94. [Persian] DOI: [10.2174/1573399815666191115154421](https://doi.org/10.2174/1573399815666191115154421)
- 18- Ghahreman E, EIDI A, Mortazavi P, Oryan S. Protective effect of purslane (*Portulaca Oleracea*) on cadmium chloride-induced testicular damage in adult male Wistar rats. *J comparatave pathobiology*, 2018; 16(3): 2883-92. [Persian] <https://www.sid.ir/paper/391872/en>
- 19- Nazif NN, Khosravi M, Ahmadi R, Bananej M, Majd A. Effect of treadmill exercise on catalepsy and the expression of the BDNF gene in 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-induced Parkinson in male NMRI mice. *Iran J Basic Med Sci.* 2020; 23(4): 483-93. DOI: [10.22038/ijbms.2020.37707.8960](https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.37707.8960)
- 20- Rouzbehan B, Ebrahim K, Ghazalian F. The effect of aerobic training and pomegranate juice on serum levels of some microRNAs related to the oxidant/antioxidant system in women recovering from breast cancer. *Yafteh.* 2021; 23 (4): 133-148 [Persian] DOI :[10.32592/Yafteh.2021.23.4.11](https://doi.org/10.32592/Yafteh.2021.23.4.11) <http://yafte.lums.ac.ir/article-1-3179-en.html>
- 21- Soltani R, Gaeini A, Nuri R. The effects of 8 weeks aerobic training on HIF-1 α , miR-21 and VEGF gene expression in female Balb/c with breast cancer. *Yafteh.* 2019; 21(1): 63-74. [Persian] URL: <http://yafte.lums.ac.ir/article-1-2760-en.html>. [Persian]
- 22- Ghalambor F, Abednatanzi H, Gholami M, Ghazaliyan F. The effect of aerobic exercise on MMP-2/miR-21 signaling pathway of cardiac fibrosis in elderly rats. *Razi J Med Sci.* 2022; 29(9). [Persian] URL: <http://rjms.iuums.ac.ir/article-1-7127-en.html> OR
- 23- Delphan M, Agha Alinejad H, Delfan M, Dehghan S. Intratumoral effects of continuous endurance training and high intensity interval training on genes expression of miR-21 and bcl-2 in breast cancer bearing female mice. *Iran J Breast Dis.* 2017; 10(2): 49-57. [Persian] DOI: [20.1001.1.17359406.1396.10.2.5.6](https://doi.org/10.1001.1.17359406.1396.10.2.5.6)
- 24- Taganov KD, Boldin MP, Chang K-J, Baltimore D. NF- κ B-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103(33): 12481-6. DOI: [10.1073/pnas.0605298103](https://doi.org/10.1073/pnas.0605298103)
- 25- Polakovičová M, Musil P, Laczo E, Hamar D, Kyselovič J. Circulating microRNAs as potential biomarkers of exercise response. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(10): 1553. DOI: [10.3390/ijms17101553](https://doi.org/10.3390/ijms17101553)
- 26- Baggish AL, Park J, Min P-K, Isaacs S, Parker BA ,Thompson PD, et al. Rapid upregulation and clearance of distinct circulating microRNAs after prolonged aerobic exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2014; 116(5): 522-31. DOI: [10.1152/jappphysiol.01141.2013](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01141.2013)
- 27- Sheedy F, O'Neill L. Adding fuel to fire: microRNAs as a new class of mediators of inflammation. *Ann Rheum Dis.* 2008; 67(Suppl 3): iii50-5. DOI: [10.1136/ard.2008.100289](https://doi.org/10.1136/ard.2008.100289)

- 28- Quan X, Ji Y, Zhang C, Guo X, Zhang Y, Jia S, et al. Circulating MiR-146a may be a potential biomarker of coronary heart disease in patients with subclinical hypothyroidism. *Cell Physiol Biochem*. 2018; 45(1): 226-36. DOI: [10.1159/000486769](https://doi.org/10.1159/000486769)
- 29- Oghbaei H, Asl NA, Sheikhzadeh F. Can regular moderate exercise lead to changes in miRNA-146a and its adapter proteins in the kidney of streptozotocin-induced diabetic male rats? *Endocr Regul*. 2017; 51(3): 145-52. DOI: [10.1515/enr-2017-0015](https://doi.org/10.1515/enr-2017-0015)
- 30- Sawada S, Kon M, Wada S, Ushida T, Suzuki K, Akimoto T. Profiling of circulating microRNAs after a bout of acute resistance exercise in humans. *PloS one*. 2013; 8(7): e70823. DOI: [10.1371/journal.pone.0070823](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070823)
- 31- Sari Saarra V, Amirsasan R, Iraqi SF. Comparison of changes in miR-146a gene expression and serum levels of TNF- α , IL-6 and CRP following interval or continuous aerobic training with calorie restriction in obese women. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2021; 9(20): 30-43. [Persian] DOI: [10.22077/JPSBS.2020.3560.1572](https://doi.org/10.22077/JPSBS.2020.3560.1572) or https://jpsbs.birjand.ac.ir/article_1914.html?lang=en